This Page Is Inserted by IFW Operations and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS --
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning documents will not correct images, please do not report the images to the Image Problem Mailbox.

(12) 公表特許公報(A)

(11)特許出願公表番号 特表平7-500580

第3部門第2区分

(19)日本国特許庁 (JP)

(43)公表日 平成7年(1995)1月19日

(51) Int.Cl.4

識別記号

广内整理番号

FI

A61K 38/00

ADP

8314-4C

A61K 37/02

ADP

(全 11 頁) 予備審査請求 有 審査請求 未請求

特願平5-504766 (21)出願番号

(86) (22)出願日

平成4年(1992)9月9日

(85)翻訳文提出日

平成6年(1994)3月9日

(86)国際出願番号

PCT/AU92/00480

(87)国際公開番号

WO93/04690

(87)国際公開日

平成5年(1993)3月18日

(31)優先権主張番号 PK8279

(32)優先日

1991年9月9日

(33)優先権主張国

オーストラリア(AU)

(81) 指定国

EP(AT, BE, CH, DE,

DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, M C, NL. SE), AU, CA, JP, US

(71)出願人 ペプチド テクノロジィ リミテッド

オーストラリア国 2099 ニュー サウス

ウェールズ ディー ホワイ インマン

□-F 4-10

(71)出願人 キングス カレッジ ロンドン

イギリス国 WC2R 2LS ロンドン

ザ ストランド (番地なし)

(72)発明者 ミカエリス, ジューゲン

オーストラリア国 2118 ニュー サウス

ウェールズ カーリングフォード ホニ

トン アヴェニュ イースト 10

(74)代理人 弁理士 志賀 正武 (外2名)

最終百に続く

(54) 【発明の名称】 糖尿病の合併症及び病因の処理方法

(57)【要約】

Én :

本発明は糖尿病の合併症と病因との治療のための方法 を提供する。この方法は($\beta-Ala-His$)n、 (Lys-His) n、式Ri-x-Rzの化合物、製薬上 許容し得るそれらの塩類とそれらの組み合わせ:及び製 薬上許容し得る媒体、ここでnは2-5であり、R,は1 又は2の自然発生アミノ酸であり、付随的にアルファー アミノが1から12炭素原子、好適には2から6炭素原 子のアルキル又はアルアルキルによってアセチル化さ れ、R2は1又は2の自然発生アミノ酸であり、付随的に アルファーカルボキシルが 1 から 1 2 炭素原子、好適に は2から6炭素原子のアルキル又はアルアルキルによっ てエステル化又はアミド化され、及びXはR,-L又はD $-His(R_*)-R_*$ であり、ここで R_* は空位か又は1から12炭素原子、好適には2から6炭素原子のω-ア ミノアシルであり、R。は空位又はアルキルースルフィド リル、ヒドロキシル、ハロゲン及び/又はアミノ基によ る修飾イミダゾールであり、R。は空位又は1から12炭 素原子、好適には2から6炭素原子のカルポキシ(アル キル) アミドである、よりなる群から選択された化合物 を備えた組成物の糖尿病患者への投与を包含する。好ま しくはその化合物はカルノシンである。

ゅ まの 4 日

- 2 段紀化合物がカルノシン アンセリン、オフィジン、ホモカルノシン、ホ モアンセリン、Dーカルノシンとカルシニンからなる群から選択されたものであ ることを特徴とする検索の範囲第1項記載の方法。
- 3. 対記化合物がカルノシンであることを存品とするは果の範囲第2項記載の 方法。
- 4 RiとRzがレースはDーリジン又はレー又はDーアスパラギン放又はレー 又にDーグルタミン版又はそれらの福局物であることを特徴とする越来の範囲剤 L 連記並の方法。
- 5. 前記組成物がさらにアミノグアニジンを倒えることを特徴とする自収の範疇も1.20から第4.44のうちいずれか1.項記載の方法。
- 6 段記組成物がインシュリンスがホニル展表、ピグアニジン及び/又はアミリン関係体とともに共投与されることを特徴とする対象の範囲第1項から第5項のうちいずれか1項記載の方法。
- 7. お記組成物が注射、注入 摂取 吸入、点吸 イオン海入法又は烏所付加
- 13 科紀化合物がカルノシン、アンセリン、オフィジン、ホモカルノシン、ボモアンセリン、D-カルノシンとカルシニンからなる群から選択されたものであることを特殊とする様々の範囲第12項記載の使用。
- 1.4 前紀化合物がカルノシンであることを特徴とする資本の電阻券13項紀 数の作用。
- 15 RiとRzがL-又はD-リジン又はL-又はD-アスパラギン数又はL-又はD-グルタミン数又はそれらの程序物であることを特殊とする資本の報告
 第12項記載の使用。
- 16 料記美がさらにアミノグアニジンを増えることを特徴とする様本の範囲 第12項から第15項のうちいずれか1項記載の使用。
- 17 前記券がインシュリンスルホニル展集、ピグアニジン及び/又はアミリン環事体とともに共換与されることを特性とする構象の範囲第12項から第16 ほのうちいずれか1項記載の使用。
- 18 月紀美が後替、注入、 茨敷、 破入、 点隔 イオン 導入 送又は 局所付加に よって 役与されることを特徴とする 周求の 範囲 第12 用から 第17 項のうちいず れか1 項記長の使用。
- 19 耐紀美が経口的又は点類的に投与されることを特殊とする構図の範囲第 12年から第18年のうちいずれか1項記載の使用。)
- 20 前紀化合物が、その組成物が皮膚穿透、皮膚付着、組織吸収/吸収、皮膚感性及び/又は皮膚刺激に関してはなきされたような分子であるところの類な分子と進合されては弱合されたものである様本の範囲別(2項から第19項のうちいずれか(現記載の使用。
- 22 肩紀化合物が養利育理体の影響中にあることを特殊とするは次の範囲第 12項から第21項のうちいずれか1項記載の使用。

によって改手されることを特配とする意象の範囲第1項から第6項のうちいずれ か1項記載の方法。

- 8 前記組成物が終口的又は点版的に改与されることを特徴とずる調求の範囲 第1項から第7項のうちいずれかし項記載の方法。
- 9 叙記版成例が、その場成例が改身安温、皮膚付着、組織を収入を増、皮膚 50件及び/又は皮膚胸をに関しては改善されたような分子であるところの別な分 子と混合され文は試合されたものである環境の範囲第1項から第7項のうちいず れか1項記載の方法。
- 10 自己分子が、ラウリルは受ナトリウム ラウリルアンモニウムオキンド、オソン、デシルメナルスルボキシド、ラウリルエトキシレート、オクテノール、ジメナルスルボキシド プロピレングリコール、ニトログリセリン、エタノール及びそれらの組み立わせよりなるおから選択されたものであることを特徴とする
 はまのお開業の見足者の方法。
- 1 月記化合物が美規製産はの形型中にあることを特徴とする関求の範囲系 1 日から第10日のうちいずれか1日記記載の方法。

利耳 8

根収録の合併度及び身因の処理方法

本免明は「建原省の合併住と何因の処理方法に向する。

リペプチドであるカルノンは 内から得られる熱安定性抢出物質として、約90年前に発見された(Galevitsch と Asiradzibi、1990)。以来これら初期の 朝物質については、ジペプチドの分布と代替に向する多くのデータが書積された。 カルノシン (ガーアラニルーレーとスチジン)、及びアンセリン (ガーアラニルーレーメチルーレーとスチジン) やホモカルノシン (ァーアミノープテリルーレーとスチジン) のような、その政連化会物は、多数の哺乳動物の労協筋(クロースチリン)のような、その政連化会物は、多数の哺乳動物の労協筋(クロースチリン)のような、その政連化会物は、多数の哺乳動物の労協筋(クロースチリン)のような、そのこの政権を表現明するための統一された保証は存在していないが、それらの抗液化特性、放射解解するための統一された保証は存在していないが、それらの抗液化特性、放射解解する方のDNAの保護費力、二節力テオンのキレート最、生理的P社会での顕著な対策を表現から、それらのインビボでの主見な機能が、タンパク質、融質及び他の巨大分子を保護するものであるとの概念がなされた。

自由ラジカル減及剤としての概念に付け加えて、カルノシンは「免疫避費剤」として作用し(ナガイ(Magai)特許 GB 2143T32A)、それは、ある陰の悪治療に有効な性質を持っことが主張されている(ナガイ、特許 DE 342478[Al]。 カルノシンは、透陰化腎質に誘起された自内質の治療にも有効であることが示された(Bavizhayav、1989)。また、カルノシンは、外傷の治療過度を促進できるという証拠もある。

非原果的グリコシレーション(glycosilation)

自由ラジカル降客は、タンパク質及びは触の展面に作用する唯一の過程ではない。企図書的グリコシレーション(グリケーション(glycation))である。女物化学におけるメイラード反応(メイラード、1912)または褐色反応は、アミノ番と電アルデヒドまたはケト番との反応を含み、それは実性アミノ番を生成し、組局グリコンレーションが進行した象殊生成物(advanced-glycosylation-end-pr

oducts) (AGE-生成物) モ形成する。インビボでのグリケーションは遅いが、 提出的に重要なのは、老いること、及び難レベルが上昇する、即ち御収録という 毎度学的状況である。

タンパク質のグリケーションは試験官の中で実践することができる。いくつかの研究により、ほとんどのタンパク質とDNAが 赤線末的グリコンレーションの潜在的ターヴァトであり、そこでは、関が分子のアミノ系に、シッフ塩系を強して貼合し始めるということが示された。別誌を再足刑が尽こり、増色された生、成物を与える(デマドリ生成物と呼ばれる)。さらに、アマドリ生成物の遅く特定されていない反応が起こる。

タンパク質中の好ましいグリケーション部位の分析により リジン残基のとアミノ高が、特にセステジン技法に直接しているとき、主要な自体になることが示された(Shilton と Velton、1991)。インビボでの扱い地域所を持つ安定なペプチドの概求において カルノシンのアミノ故を引がレッセーHisに無似しており、雄と反応し、アルデヒド諸役所として反応する紹力を有していることを見いだした。さらに、カルノシンは実質的にお母性であり、よく返明された母性は缺にした。そのはちは哺乳類に5~10g/体ェ:kgのレベルまでをラナることができ、長期間の治療にわたって物性制作用は予想されないことを示した。

その他のただ一つの化合物だけが、時と反応し アマドリ対反列を減断することにより グリケーションを選ばだすることが示された。アミノグアニジンは、インピポとインピトロの両方で グルコース別ピのグリケーソョンが延行した最早生成物を減少させる。不幸にも求称的なヒドラジンであるアミノグアニジンは、存生種的であり、知られていない長期の思性がある。

建尿病

£... -

間収例は インシュリンの窓性または慢性欠乏に最関する代謝上の成生である。 これは、血液グルコースレベルの上昇によってお断される。 窓性状態は インシュリン飲存性場所のグルコース取り込みの減少によって特徴づけられる。 生はは その処実生ずる脂肪分解の増加とグリコーゲン合成の減少によるエネルギー欠乏 を中和する。 地路病の病状が更減であるとき、熱量は2つの主要な弱から失われ

な効果を有していると思われる。

グリケーションとアテローム性動脈変化症

極近の研究により AGEがアヤロームは動脈型化成の進行において機能を有しているかもしれないことが示唆されている。これは ヒトの単球が、その長頭にAGE特異性レセプターを有しており リリーシング(reliesing)シトキンによって刺激されたとき応告するという発見に基づいている。血管型に対する小さな障害は、サブー内皮水GEに断し、単球の没有を促落し、アデローム性動脈硬化皮体下の進行を関略する。構成しているリボタンパクもまたグリケーションを発け、それは、グリケーションされていないリボタンパクより早い速度で内皮積区によって取り込まれる。これは 環保資において重要であり グリケーションされたリボタンパクの周囲レベルの上昇が報告されている。 使って、カルノシンのような抗グリケーション特性を引する化合物は 血管の疾患に緩吸的な効果を持つ。

血液中の高いグルコースレベルの長期にわたも形質を中和する化合物の 新妻された女郎の摂取を アミリン選訴での、インシェリン投手 スルボニル果果とピグアニド (biguanide) 処理のような新妻された世界兵治衆に付け加えることは「何かであろう」 グリケーションに参加するのは グルコース、ガラクトース、ブルクトース、リボース及びデオキシリボースのような選え頭の両属形無だけである。この自由アルデヒド系をは促し、それを非常性形態に配合させることにより、インピボ及びインピトロでの斉い限レベルに接触する係者を減少できるものと係している。合併ほど何度の処理のために視案された化合物は、以下の特益のうち

る。即ち グルコースは属で失われ、はタンパク質もまた失われる。これは、インシャリンが促基する筋肉から骨かれるアミノ酸からの特所生が不十分だからである。点はの病気は、インシュリンは耐によって新物できるが、その新物に決して発症にはできないので、糖皮肉の及間にわたる適命は、生症の後期に、自(自内腎免生や虧損成患)、脊膜(腎臓病)、神経(神経成)、及び血管(血管症やアテローム性動脈硬化症(artherosclerosis))において足こる合併症に依存する。
念状心疾患は、糖尿與及び非糖促痢も同様に、最も一般的な死因であることは足分質症をれている。

展タンパクの分析は、地域深刻型本の重大な質量変更(質 展典)の存在を被除するために通 存受点される。原タンパク結果が正であることは、一適性または重要でない改善 基本の免見であるかもしれないし、あるいは育業知言の知知依頼であるかもしれない。 最も 夏太な タンパク原式 は、 育業 在資政 ハイパーマンション、 及び返行している 育 風障害と関連している。 これらの条件下では、 青糸球体は タンパク質の 通過性が上昇するが、 その機関はあまり解明されていない。 その影響は、 全質 観 漢客をむしる 急速に促進させ、 最終的に死に 至らしめるので非常に 重大である。 この タンパク 家の主成は、 歯原負、 具素が状態は、 紅 原性 数差のような 系生の二次的 帰結として 足こる。

智収点の他の合の区として、刺収点点の進行におけるグリケーションの潜在的 登割を考定に入れなければならない。刺腹毛細管は、毛越管内腔をにむって至び 清清性(血地一周減)神理を形成する内皮凝凝 及び周皮細胞(登細胞)を含ん でおり、それらは、その2つの凝胞タイプにより生成される基定質で包まれている。地球倒性網膜皮患の初期段形に対いて 整原周皮細胞は選択的に失われ、基 位別を取り部んだゴーストのような質を放出する。血液一副原理型の破壊は、も うのとつの収集である。アルドース運元辞景間を別が、動物の実験の網膜反足の 他類に対いて研究されている。それらの作用の最減は、ソルビトールの蓄積と、 聴臭としての設治性の変化を阻害することである。しかし、ハメスら(Basset et al)(1991)が、アミノグアニジンが実験的地球倒性影響反思の著行を阻 ぎずることを示したという事実から、非歴末的グリコシレーションとの場合が明 らかになった。カルノシンのような他の潜在的なグリケーション間言剤も改成的

のひとつまたはそれ以上を有するペプテドである。

- 1)比較的高い皮与量においても非常性であること。
- 2) 最内の作符界的プロデアーゼによって開製されて、完全に血液または認定に 吸収されること。しかし、腎臓によってクリアされ、それによって無原病のグル コースとして類似の組織に分布させること。
- 3) そのペプテドは、タンパク質を間のアミノ系に比較して、漢元頃と遠く反応 ・ よ すること。
- 4)最終的にグリケーションしたペプチドは、グリケージョンしたアミノ爾とは 足に、交色実践原位とならないこと。
- 5) そのペプチドが血液または超減中の特質的プロテアーゼにより関収した45 は、結果的なアミノ酸は、2000円の出資低値がある、例えば2000年を促進したり 食の食点平衡を中間したりすること。

全明の要的

本名明さらは、 カルノシンと素似の法性を持つペプチドは、雄蕊鼻の合併在及び身因の必須に有効であると思する。

及って、第1の原はにおいて、本発明は、地球外の合併を及び病因の処理方法である。その処理方法では、地球科主会へ(8一人1a-His)へ、(LysーHis)へ、一般式R1ーメーR2 の化合物、それらの製具上許ちされる場。及びそれらの組合せからなる群から選ばれる化合物と、製具上許ちされるキャリアからなる組成物を投与する。ここで、nは2-5、R1は12には2の天然免生(asteral occorring)アミノ酸で、皮質医1から12、好ましくは2から6のアルキルをはアラルキルでエステル化されたαーカルボキシルを有していてもよい。R2は1または2の天然免生アミノ酸で、炭素を1から12、好ましくは2から6のアルキルまたはアラルキルでアセチル化されたαーアミノを有していてもよい。また、XはR3ーLまたはD~His(R4)-R5であって、R3は空位または皮膚を1から12、好ましくは2から6のルーアミノアシルである。Raは空位またはアルキルースルフィドリル、ヒドロキシル・ハロゲン及び/またはアミノ系で発酵されたイミダノールであり、R5は空位または皮膚を1から1

2. 好ましくは2から6のカルボキシル(アルキル)アミドである。

本免록の好えしい実践を任では、R₁及びR₂は、L-またはD-リジンあるいは はL-またはD-アスパラギン使あるいはL-またはD-グルタミン使あるいは それらの相何はである。本免明の好ましい実践里様では、その化合物はカルノシ ン、アンセリン ゴフィジン ホモカルノシン、ホモアンセリン、D-カルノシン ン、及びカルシニンからなるなから遠ばれ、最も好週には、化合物はカルノシン

本免明のさらに好ましい資源整弦では、その超成物は、アミノクアニジンのような、確保何の合併在及び何理の処理に有対な効果を有する他の化合物を含む。

さらに、多くの治療されるべき患者が、インシュリンスルホニル展集。ピグアニド、生たはノミリン連絡治療を受けていてもよく、本免刑の組成物は、そのインシュリンスルホニル展集。ピグアニド、またはアミリン及政治療と共役与して
トナい

スルホニル灰 京酸 ピグアニド 治衆についてのさらなる情報は、ベックーニール セン(Seck-Rielsen)の "Pharancology of Diabetes" C.E. Mogensen と C. Stan dl 窓、1991、pp75-92、そこに含まれる参考文献の関示に見いだされる。

上で述べたように、その母成物は注射によって交与してもよい。例えば、無顧の注射可能な水性もしくは選性型過越のような注射可能な受用は、適宜の分散をたは過程利及び整過期を使用して、当異なによく知られた方法に従って要要できる。その無値の注射可能な変換または型過増でもよい。 ば用してよい 転換 でいまないが はは、水、リンゲル地、及び生理女地水である。さらに、無値の図主物 (fixed o illは、多ばまたは準弱域はとして、 で失識りは用することができる。この目的のために、 おぼそんは準弱域はとして、 で失識りは用することができる。この目的のために、 おばそんは準弱域はとして、 で失識りは用することができる。この目的のために、 おばそんは準弱域はとして、 で失識りは用することがわかった。

その遺成物の役与すべき日暮の全投与夏は、治療されるべきホスト及び 特に 役与万法に保存するだろう。ある特定の思考への特定の役与夏レベルは、区間さ れたその特定の化合物のは性、年齢、体重、一般的資源、性、食食、投与時間、 投与経路、蜂を選底、及び患者が受ける制作用の貫きも含む質因の変化に使存す ることは理解できるであろう。必要とされる役与夏レベルの選択は、この分野の 西達した者の専門的技術の範囲内であると思われる。

カルノシンの投与量は、 $20\,m$ gから $2\,g$ /体量k,g/日であり、好ましくは $1\,0\,0\,m$ gから $2\,0\,0\,m$ g/体度 $k\,g$ /日であろうと思われる。

 地域身におけるアミリンプロッカー治療の使用についてのさらなる情報は、ウェスターマークら(Vesterserk et al) 1997 DNAS、<u>84</u>、3881~3885、そこに含まれるお考え似の関系に見いだぎれる。

インシュリン治療の大きな欠点のうちのひとつは、注針を超級して分質とする ことである。本発明は、カルノシンと、ビグアニドまたはスルポニル保証との経 口袋与による及の方法を複数でき、それは誘尿側に対してより効果的である。

本免明の組成物は、注射、圧入、吸取、強入イオン改造減法 または局所更なのような任意の方法で改与することができる。しかし最終点では、狂口で投与するのが終ましい。

きらに好ましい具体例では、恐性化合物は、超成物の皮膚浸透、皮膚性を 組 超吸収/吸着、皮膚感性、及び/または皮膚刺激を改善するような他の分子と 及 合または配合している。その分子は、ラウリルは酸ナトリウム、ラウリルアン モ ニウムエキンド、オゾン、デシルメチルスルボキンド、ラウリルエトキシレート、 エタノール及びそれらの混合物からなるほから選ばれるのが好ましい。

その化合物は、英期料理は(prodrug)の形型であってもよい。プロドラッグ技 質のさらなる情報は、「医薬品デザインと発達のデキストブック(A Text Book of Drug Design and Development)」、ボブル・クロッグスガードーラーセンと ハンス・プンドガード(Povi Erogagaard-Larson and Hans Bundgaard) 値、5 象 「プロドラッグのデザインと応用(Design and Application of Prodrugs)」H. アンドガードに見いだすことができる。この参考文献の関系は、ここでクロス リファレンス(cross-reference) として含まれている。

上で述べたように、本免項の超級物は疑口及与されるのが好ましい。 当業をには足解されるように、その超級物を経口デリバリー(delivery)への適合性を改善するような多くの経典をなずことができる。終ロデリバリーのさらなる情報は、「ペプチャとタンバク質ドラッグデリバリー(Peptide and Protein Drug Delivery)」、ピンセントH L リー(Vincent H L Zea)編、16ま「ペプチャとタンバク質ドラッグデリバリーの経口経路(Oral Eoute of Peptide and Protein Drug Delivery)」、V. H. L. リーら、に見いだすことができる。この参考文数の開示は、ここでクロス リファレンスとして含まれている。

リピニルピロリドン、ポリピニルメチルエーテル、ポリエチレノネシド、カルボボール(carbopol)及びキサンタンガムのような合成誘導は、そしてそれらのポリヤーの返さ物である。そのような環域物は、種番所、保存所、産産所、乳化分散制のような薄果を含んでいてもよい。好ましい保存剤は、四級アンモニウム化合物、フェニル水保障・ペンゾイルアルコール、ファニルエタノールなどの抗菌剤、及びメダビスルフィドナトリウムのような酸化防止剤を含んでいる。好ましい種番利は、ポレート、アセテート、グリコネート及びホスフェートは仮解を含んでいる。製具的な点膜の超成物はソリッド・インサート(solid insert)の影響であってもよい。

これまでの建設で明らかなように、地図券の合併成及び発展は、非辞書的グリコンレーションを減少または防むすることによっ(野球できる。従って、本免明の方法は、非辞末的グリコンレーションによる他の疾患は屈の、他の有害な合併 成及び発度の処理に有効であることが予想できる。

本発明の住実がより明確に理解されるために、好ましい形態を、以下の実施例 及び図園を参照して説明する。

第1億は、Lーカルノシンと増との反応選択を示す。Lーカルノシン(60mM)は、pド7の50mMナトリウムーリン酸硬质地中で、5円間60でで、類(180mM)と反応させ、カルノシンの自由アミノ基の減少を HPLCによって検定した。SEM(環境混合物中の全カルノシンのホ1米)

第2回は、カルノシンのアテローム性効果硬化皮に対する影響を示す。(東コレステロール、口コレステロール+カルノシン)

第3団は、地球向ラットにおける白内障の形成に対するカルノシンの影響を示す。 (製造学 ②地域向、口地域向+カルノシン)。

発明の耳目な説明

方法

地に対するペプチドとアミノ政法界体との反応

別の方法を除き、反応は 60での水浴中、密封されたミクロ為心分離用パイ アルの中、リン競塩で経断化された塩溶液、PBS、(140m1のNaCl/

(...

10mMのリン酸ナトリウム. pH7 4)で行われる。反応混合物は 50mMのペプチドと、500mMの間とを含む。 改定支持の時間のポイント値にサンプルが取られ、水で1・20に分裂され、HPLCによる分析の前は-20ででは55れる。

アミノ英の快出

ペプチドの政庫アミノ系の技出のためには、ウェーターズェート (Waters AUTO)OPAIPO使用される(Waters AUTO TAGIPO 「TAGIPO」で使え、AUTO)のPAIPO使用される(Waters AUTO)では、DPAIPO では、DPAIPO では、DPAIPO

クリケートした気白質 (Glycated Proteins) のHPLC特性のグルろ通クロマ トクラフィニ

カラム スパロースち (Superose 6) . ファーマシア (Pharmacia)

放出・ 蛋白質の試料 (約100円度)の100円

彩層的 10mMのリン飲物労用pH7 38,140mMのNaC1,2m MのKC1,0 02%のNaN3,0 05%のツィーン (Twe en)20

減度 (FLOR ZATE) · Q. 5 m·1 / m i n

+ 2 8 0 n co

校正はファーマシア(Pharmacia)の高分干量(片MW)と低分子員(LMW))との校正キットを用いて成される。

按正成分		分子量 保持		53 TE	
	ブルーデキストラン	>2 000.000	15.49	a±5	
n ya w	ナログロブリン	669,000	25 84	n=6	
	フェリチン	440,000	29 73	g=5 .	
	カタラーマ	232.000	32 58	n=6	
	אַנּעני ב	100'800 Ham	12.58	<u>R</u> =6	

リー(Laiser's Glycerol Jeily))が収定される。200 ME Bid C Ta 分は 直接 的に 関係分析(アイコン(Ere cos) B 5 0 ME D プロセッサ) モ用い 超常 思分を意味定まする。コンピュターを用いた面積割まは 影響を受けた保護のパ ニセンテージを内轄的に決定するのに用いられる。アテローム性動業硬化ののブ ナークの代表的な部分は、光学発表地でによる確認のために、取り取かれる。結 気は 平均士S E M として表される。

19 茶袋のネズミの中の日内澤の形式

200-250をの生さて 生後も洒加のはのスプレイジダクレイ(Spregue-Davier) ネスミは 次の三つの毛皮グループ・コントロール、博品会、カルノシンで免受された研究会のネズミモ無作为使用した。確保会は ストレプトリトシン(streptorotaten) STD(くえん酸酵園所、PH4 5中 体の重量に対しる0mg/kg)で引き起こさせ 一週配後、20mM以上の血質のグルコースのレベルを持つ生ての動物が研究に含まれる。隣保会のネズミは、治療されてないもの または、飲料水中に2%のカルノシンを受けたものが無作み化される。原果

3891

無とカルノシンの反応

グリケーション(glycation)中のアルデヒドとフミノ高との間の気の速度は 単に温度だけでなく 反応物の譲渡にも依存し このように 平衡の影響を受 けない反応の選成を上げるために 生体外での実験中 非生態的な条件の使用が 計される。メイラード反応の中の最初のステップは、アルデヒドと一次のアミノ 易の間のシップ場高の形成であり 増の環境状の様の形の食にしたがって変化す る。これはアマドリを位と複雑な二次反応による結果として起こり 多くは十分

グルコース ガラクトース カルノシンを持つジヒドロキシアセトン (dibyde oxyactetone (DHA)) のインキュペーションは メイラード (1912) により最初に述べられたように グリケーションの特色として茶色の溶液を生ずる... 地とカルノシンの反応は HPLC接に 愛光変量的に調定された運輸下ミノ品の消失をもたらす。グルコース ガラクトース DHAは それらとカルノシ

		*		
LNW	ブルーデキストラン	>2,000,000	15 65 -	n=5
	アルフミン	67.000	33.74	n=6
	オポテルブミン	A3, 000	35 57	2=2
	キモトリプシン人	25,000	39 23	b=6
	リボフクレアーゼム	13,700 共移出	39 23	n=6

特表平7-500580 (5)

現化合物の交換素質原性の遺产性の分析。"エイムズ以降"

グリケートした化合物の事質が キム (Sie) 5 (1991) にしたがって成される。 周単に含えば ローグルコース (1M) と 次のそれぞれ・Lーカルノシン しーリジン レーアラニン (全て1M) との及留水中に写解され、VIIが7に開発され、返合物が100でで80分間の熱される。 厚地 (50以1と250以1) は 逐歩のなネズミ肝臓のミクロノーム (5-9) の事間による代謝は住宅用い または 周いずに ブレート多人方式 (flaron と Lett 1981) を使用するネズミテフス語 (Stieonells typhisurius) TA100ほに対する評価を行う。 2-AFと2-AAFとは 代謝例象を持つ試験のために 帰住コントロールとして使用され さもなければ ナトリウム アジ化物が 特別な降性コントロールの単版として含まれる。

アテローム性効果状化のカルノシンの効果

高いコレステロール(2米)関邦で興宜された成のニュージーランドホワイト クロスラピットが コントロール。またはカルノシン処理2%のために無作為に 使用され そして 血板がコレステロールとトリグリセリドとカルノシンとのた めに改変される。まての動物は 一日当たり食料ペレット100gの給料とし 水は自由反取とした。

8 透過の処理病態の後 3 ラビットは ペントバルビタール (3 2 5 m s / k s) を用いて立幹し、生ての大政策を取り体く。音感、胸感 22 部の領域は最初の一対の短期の知識と改性の知識の上別 0 3 c m とに足も近い周囲 1 c m の 大財話を切ることにより分解する。助策血管外膜を注意はく切り侵害、動態は、 集管内裏の表価をさらずように誠に切断する。大強誠は、 4 8 時間、 1 0 米のホルマリン提高期の中で免疫される。これらの容器の中の配質プラークがスーデン 1 V (\$44ap 17) を用いて免疫される。さらに水性延体(カイザーズグリセロールゼ

ンとの反応において異なる(第1回)。 グルコースは、反応性が少なく、 D H A が多く 少なくとも 1 5 倍の差を示す。 その間便性のために食々は以後の連続し た多くの研究の中で、 トリオース D H A の使用を選択した。

支压图2

カルノンンによるウン血法アルフミンの支点を見早するジヒドロキンフセトンの 防止

クシ血液アルプミン(50mMのリン酸ナトリウム酸苦剤、pHが7 0で、50mを/ml)の生理学上の濃度は、4週間のあいだ23でで、250mMのレーカルノシンの存在とそ在とにおいて250mMのジとドロキシナセトンも用い、または、これを用いないでインキュペートされる。実験は無限のは選下で行われ、4点人域後はよしりロイアルでであっます。中央で、第11円両の 第18に吊て、

この長用部の実験において、ソヒドロキシアセトンは、グリケートしたアルブ シンを有し、アマドリ転位の範葉として、引き扱いて、四はゲルの形成を誘発する。カルノシンが存在するときはバイアルの中身は消化のままである。

#1 R

ウシ血清アルブミンの非母素的なグリコシレーションのジヒドロキシアセトン 誘発に関するカルノシンの効果。

采品产3

カルノシン及び異なるでミノ頭とグルコースとの反応及原の比較

張日貢とグルコースによるはほとのほやかな非辞歌的なグリコシレーションは、 生理学的な望からうりでにまで選択を引き上げることにより インビトロで促落 される。インビボ及びインビトロのグルコースの主なターゲットは、塩品性のア ミノ接リジンとブルギーン(改選か 丘口質中の混合かのいずれか)である。 お 2表はカルノンン及び異なるアミノほとグルコースとの反応の比較を示す。 選元 畑のたののメイラード反応の特別性を示すために グルコースは リルビトール (非理元階)により実践される。グルコースまたはソルビトール (50 m M の リン酸ナトリウム母馬用、P H 7 のの中、250 m 8 / m 1)の5 U U u 1 は、18 内間、50 でで、其なるアミノ酸またはカルソシン (500 m M)を用いてインキュペートされる。その結果生じる溶液の400 n m の光学測医が設定される(長2)。カルノシンは、最も早く反応するアミノ酸、レーリジン又はペーターアラニンの8 々よりも、約2 倍、または、8 倍以上に、より多くのメイラード反応の生成物は、カルノシンがソルビ・ルと反応したときに、多分選交換へのソルビトールの自身酸化のために明白となる。

[UT#8]

` '.

)が用いられる。DHAがてーリジンのカルノシンのギモル混合物に返加される Pi.そのジベブナトは実験アミノ献よりも選やかに、 終10倍の反応をする(会 3 表)。相対的な反応性は、グルコースが多端化の域として摂受されるときに保 技され その実験は10日間を完全に長する(表示せず)。蛋白質内に合併され たりジン技品によく異似した分子であるAc~Lys~NHMeは カルノシン と比較してDHAとより違い反応を示した。ペプチドAc~Lys~His-N H2は長白質中の優先のグリケーションサイトに類似し カルノシン役員のよう 女用様の作用を示した。 ペプチドのペーターアラニルーグリシンは D H A と実質 的に反応せず、検回たるグリケーションのためのペプチャ中の2つの位置でヒス ナジンのための要求物が反与される(Shilton と Valton, 1991)。Dーカルノ シン(ペーターアラニルーDーヒステジン)が自然出現アイソマーと同じくらい 建く反応する時に、より呉い福男はの、福同カルノシン(ガンマーアミノープチ リルーモーヒスチジン)はゆっくりと反応した。これは、カルノシンに小さな味 缶上の玄奘(メテレン基の付加)がその反応性を減じていることを示す。それは また。各種の高によるリジンの変数が反応率に関して意味のある効果を有してい ることが明白となる。Ac-Lys-NH2Me(海豚アミノとカルボキシルあ)がより返やかに反応するのに対し、エーリジンは丑歳アミノ酸よりもゆっくり

それはまた 深葉イミダソールとサクシニルヒスチジン(アルファーアミノ高が落断された)が ジペプチドのアミノ高の商気の割合の増大によって示されるようなDHAとカルノシンの反応性を増進させることが見出された。これは アナドリを守の地域として又はAGE一生産物に向う反応の平衡をそれによって変化させる中間の形型との反応のいずれか一方のイミダソールであることの示唆と一致している(Shilton と Valton. 1931)。

[以下本日]

来 2 表

グルコ ス又はソルビト ルとジペプチド又はアミノほどの間のメイタード反応 生ま物の400nmでの収え皮

インチュペーション各日	<u>0</u> D	400nm
グルコース + P B S	C	1 7 5
グルコース+カルノシン	8	4 5 5
ソルヒトール+PBS	0	000
ソルヒトール+カルノシン	0	209
カルノソン+PBS *	0	0 4 1
グルコース + D 、 L -アラニン	0	266
ノルビトール+D、L·アラニン	σ	8.0 0
グルコース+ペータ-ノフニン	1	2 4 0
ソルビトール+ペータ・アラニン	٥	010
グルコース+L-ブルギニン	0	4 6 9
ソルビトール+ L-アルギニン	0	0 1 0
グルコース + L‐リジン		170
ソルヒトール+ し-リクン	0	009
グルコースナイミダソール	Ο.	0 4' B
ノルヒトールナイミダリール	٥	0 3 5

3851

カルノシン、関係するペプチド及びアミノ競とジヒドロキシアセトンの反応

がルノシン 残価したペプチド及びアミノ酸に対するDHAの反応率を比較する (第3長) 時に、カルノシンはリジンよりも遠やかに反応し、ワペプチドがグリケーションのためのアミノ高の他のソースに対して設合できることを示唆している。しかしながら、この定義においてリジンはその反応に習与する2つのアミノ高を有しているのに、タンパク質中ではイブシロン アミノ高のみが存効に使用される。イブシロンアミノ高の単独のグリケーション割合の比較は、アルファフミノ高を選択する Nーアルファーカルポペンゾキジルーリジン(で・リジン

<u> 71.3 ₽</u>

t in	反応した女
	2 6
~-9-Ala-D-His-OH	2 6
Ac-Lys-His-NH2	2 5
Ac-Lys-NH2Me	2 1
H-Lys-OH	1 7
ガンマーアミノブチリルーHis-OH	1 5
	3
Z-Lis-OH 	2
n -f- Ale-E-His-OH+ 17923- His	3 3
n ng m AtanbellianOE+ (52"7" -5"	4, 3

ペプチドのグリケーションとDHAによるアミノ双似初。

AとB・化合物は60でで5時間のあいだPBS中でDHAと反応させ、選種 アミノ基の換失をHPLCによって定量した。データはDHAと反応したアミノ るのパーセントとして長度した(インキュペーション混合物中の全ペプチド又は アミノ酸のSEM ±1%)。B単独、サクシニルーHisとイミダリールはペ ーターAla-L-His-OHと定要した後のアミノ基に等モル選択で造加した。

医医疗支

グリケートルアミノ訳とグリケートのカルノシンの表異異性の存住

リジンとアルギニンのようなグリケート化アミノ液(glycaled apino acids)

は Nacon と Ames (1983)"エイムス以映"によって最初に関示された分析ジステ

ムにおいて変異原性のあること(Lia 5、1991)が報告されている。風のプロリンとシスティンのようなダリケート化ア(ノ質は使用以はPDがすれていない。 現存はL カルノシンの変異原性を興奮し、またL-カルノシン、 レーリジン及びL-アラニンからグリケート化している(第4 表)。 4 つの溶液の全では、 特に2 5 0 4 1 没多で 何等かの招示性の抑制が表われた。 3 4 ののデータでは、 グリケート化されたLーリジンが変異 基性であり、 それによって免疫性があるであるうという Lia 5 (1981) による前の前気と一致する。 その結性は、ラット肝の S-9 代謝性活性化システムによってわずかに増加する。 グリケート 化された Lーアフーンは以前の現象では沿い変質原性であり、 数4 の 質数に おいては 変異原性でないことを示した。 遺滅 カルノシンとグリケート 化された カルノシンの両 万 は 変異原性ではなかった。これは、 インビボのメイラード 反応に おいて 意味の 存る 数割をカルノシンがあじるであろうことが予知されるであろう。 Lーカルノンンと Lーリジンのグリケート 化の形態の 足具の 単白 は 知られていない。

[以下未白]

	TA 100によるブレート 草の食分類化			
化合物	段号(41)	S - 9 Q L	S - 9 & 9	_
L-カルノシン	250	158 ± 11	149 ± 13	
	50	154 ± 14	179 ± 15	
グリケート化された		142 ± -17	158 ± 19	
しーカルノシン	50	159 ± 7	167 ± 10	
グリケート化された	250	277 ± 21	244 ± 13	
レーリジン	50	357 ± 17	553 ± 19	
グリケート化された	250	145 ± 6	146 ± 9	
L アラニン	50	160 ± 9	181 ± 10	
数性コントロール		161 ± 6	188 ± 10	
+79 F		>1000	H/A	
+ 2 A F		X/T	250 ± 33	
+ 2 A A F		M/A .	200-	

グリケート化された化合物の変異原性ポテンシャル

サルモネラ タイフィムリウム (Saisonella typhissrius) TA l00は、 his゚からhis゚への交互変質系の格糸体である。データはブレート毎の皮婦

爾起の平均復と、 ラット肝のミクロソーム的な (S-9) 類型物によって代謝性 刺激の有るものと無いもののそれらの試験溶液とコントロールのための様準値差 とそ表現した。

4.73

花蔵裏町なグリコンレーションによる母類としてのアミノグアニジンとカルノン ンとの比較

ワシ血清アルプミン(BSA) とオポアルブミンのグリケーションに誤するカ ケーターのいずれかについて異皮を実えたものとを50℃でインキュペートして なされた。反応の出発時点と7時間経過後の一定部分を取り、反応制の装備はス パロース 6 (Sperose 6) カラムによるゲルろ遠によって分析した。蛋白質の課 株化とフラグメント状態は、コントロールとして使用した来処理の保育質と比較 した保持時間中の変化とじて目に見えて明確となる。豊づかの化合物は、輩も小 さな化合物のために共富上の保持時間の後に見われた。それらは爲いイオン濃度 と恐駕刷(フィーン20)の存在で一様なカラム財政では言される傾向がある。 それらは小さな化合物の必要性ではなく、むしろ高い充填皮と反応性である。 着 5 表にそのデータを受わする。 2 つの化合物はこのシステムにおいて別々に反応 すると思われる・カルノジンは高分子員の化合物の形成が減じられ、アミノグア ニジンに比べ低い滅滅で実質的により多くの効果がある。反応生成物が特徴付け られない全てのアミノグアニジン試料は耳波度で便性に形成される(低分子員の 形況"LMW"として記載され、背数ならばその保持時間は他の全ての化合物での 我剤より長い)。アルブミンモノマーのピーク菌族が異じられることから、これ らはオポアルブミン、アミノグアニジンとDHAの間の反応生成物であろう。3 つの化合物の全ては、保持時間文はピーク重視が7時間のあいた同様の条件のも とで別々にインキュペートされる時に変化しないことが示された。LMWはまた。 オポアルブミンがインキュスーンョン温合物中のウシ血液アルブミンによって収 **はぶられる時に復興される(表記せず)。そのLMWはカルノシンは料中に少し** も存在していない。

71.5 R

	オポテルブミン		
	クロマトグラムの風機パーセント		
	HMW	そノマー	LMW
. ta 🛤	,,		
カルノシンは4			
(A) +5 (D)	0	100	Q
(コントロール)	. 0	100	0
アミノグアニジン試料			
[A] & S [D]	0	100	0
[コントロール]	0	100	0
7 時間鏡			
カルフシン以昇			
[A]	9	9.1	0
[8]	6	94 -	0
(c)	3	97	0
(D)	25	T5	0
[コントロール]	68	32.	0
アミノグアニジン試料			
[A]	0	31	69
(B)	2	20	72
(c)	0	41	49
(D)	38	40	22
(コントロール)	68	32	0

スーグリケーターの点的性のために良い尺度は、反応の7時間後に残存する未 実成のアルブミンの重である。この点でカルノシンはアミノグアニジンと比べ全 ての温度でより4分であった。

突然图7

£

アテローム硬化化におけるカルノシンの効果

な状態減少異反単は降尿剤及び可はに非糖尿剤の最も多い死因の1つである。 グリケーションはアテローと在プラーク(atheroscleotic plaques)に加え、環 保性質以や目の反応を含む多くの特殊性合併症の過度を包含している。コレステ ロール給質ウッギは8週間の緊急を起えてアテローと性ブラークに関するカルノ シンの効果を試験に使用した。我々の研究では、カルノシンによりグリケーショ ンの力制がブラーク形成を切け美じることができることを示している。これらの 研究は第2回に示される。

そのデータのための2つのテールドはマン・ボワイトニー(Kann-Vhitner)の 2サンプル試験を用いて見出した「胸部大動展 = 0 0529: 反部大動展 = 0 5368; 大助展号 = 0 6523. まてのデータはアミノグアニジン(n=ii)結婚に対して機保 易コントロール (n=i?)。その他の動物は反針的により良い結果を与えるこの研究において使用した。しかしなから、これらは非母素的グリコシル化の抑制の資

その動物のは食は8週間の免疫期限を超えて減少し、しかしながらコントモールとカルノシシ処理群の関で混はなかった。

させるであろう。 森々はストレプトゾドシンを導入した語原介ラデトモデルに対いて、たちは独している。 ルルノシン女質動物について8 洒後には、原原資コントロール群(Nann-Whitney 2 サンプル試験 2 テールロ気=0.2092; カルノシン給食にはする境際資コントロール)に比べて高度な明珠性(温薄なし)を示した(第3 面参照)。 これは5 6 日で消走されて以来、実験の半路点で その傾向がカルノシン給料によって白内珠の形成における減少として示される。

日内神は鳥物モデルにおける地質の減少のみでなく誘見させることができる。 パピズハエブ (Babithayer, 1989) は当該化した関質が動物モデルにおいて選展 する地域のの関始的保留の1 つとし得ることを示している。リボソームの型活物 のほ人は彼万貫下自内院の選昇を誘発する過酸化した制度を各有するリン設質か ら解析した。所域な自内院モデルによる程の見見は過酸化した効質に単に基づき カルノシンと類似の試験化制によって抑制し得る。メイラード反応生成物の形 成は、しかしなから、経路に促属せず、抗酸化剤によって影響を及ばすことがで きない。

[ឃុះ គេន]

コントロールに対するカルノシン的項でおいて収斂されたる独尊官の負責に差 になかった

体理状态

	0 2 8	8 2	
コントロール	3 27 ± 0 09	Z 75	± 0 17
カルノシン	3 33 ± 0 09	2 68	± 0 12

8対形な後の器官の登量(E)

	舒服	17 18	心囊
コントロール	135 94 ± 5 06	16 20 ± 0 57	7 92 ± 0 53
カルノシン	124 40 ± 6 36	17.53 ± 0 69	6 12 ± 0 27

75 H B

塩尿病ラットにおける自内界の形成に関するカルノシンの効果

日内降は十分な現力が限なわれる可はレンズの選集化である。 静屋向は、 8内 なの原因の1つの影響が確保のであるということが多くの年月と多くの臨床質様で支持されるというで成により始度例と関連付けられている。 身物中の始保質はストレアト パトジン (atreptrotoxin) によって終免させることができ レンズの過速は注射20日後により進展的に発生するが、強い過速は注射20日後により進展的に発生するが、強い過速は注射30年約によって内1.00日後に出現した。

レンズの項目質を含んだ蛋白質への協会の自内解内には、何ほされ、定量されている。最も多数の環境では特別向において一様な独別のメイラード生成物の少しの蓄積があるが、レンズは中の蛋白質は点点のグリケーション生成物の蓄操はかってなく、最色のメイラード生成物に変化するそれらの時間を有する。 化学的 実任者と群集の調査変化試免物の各種を生じる地質の最初の攻撃は、 課金百賞とレンズの結晶体とそれら否々の経路が振荡を生じ得る。 地質の反応性アルデヒド 基を有足可能なそのものとカルノシンに類似する化合物とは自内難の関係を減少

国展典ラットにおける項目策、グリケート & したへモグロビンと単中グルコース レベルに関するカルノシンの効果

8週で有意の変化のないことが次のパラメーターについて観測された。

,I.	アルブミン民
-----	--------

-		
<u> </u>	地景	頭泉県+カルノシン
24x/÷13	2 51 x / ÷ 1 07	2 51 x / ÷ 1.48

グリケート化したヘモグロビン(Hbwle)パーセント

£	1.000	
选些	张从州	後収減+カルノシン
1 5 + 0 1	4 83 ± 0 23	4 49 ± 0 14

<u> 田中グルコース (mM 催+SEN)</u>

<u>進 章</u>	388	環尿病+カルノシン
10 0±! 5	29 84±4 88.	22 63±3 00

任日原と御民住における支化は地球会議件の約30万後に唯一民家することができる。そのアミノグアニジン化合物、非研究的なグリコンレーションの防止のための有効な使用は、特別30万後の一様な難収昇モデルにおいてグリケート化したヘモグロビンの気が減少することはない。この研究は現在組織している。

明白に関示されたような定明の賃持又は発言から逸記することなく、特別な実 生態はにおいて示したような本発明により各種の変更及び/又は変形が形成され るであろうことは当異者においては明らかとなるであろう。本発明の実施活ほは、 それ故、邓示としての全ての関係において考慮されるものであり、それに成定さ れるものではない。

[**Q** F # 8]

文獻·

Gularitach Y - Famiradzibi, S. (1900) Ber Otach, Cham, Gen. 13, 1902-1903

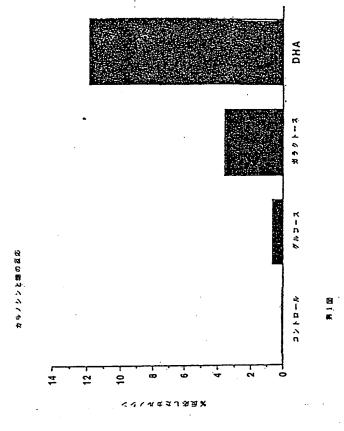
Haillard, L C (1912) C R Acad. Sci 154, 86-68

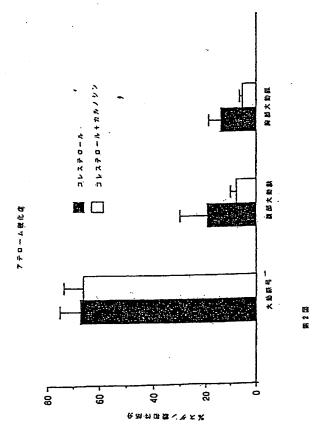
Shilton, 8 B , E Walton, D J (1991) J Biol Chem 256, 5527-5592

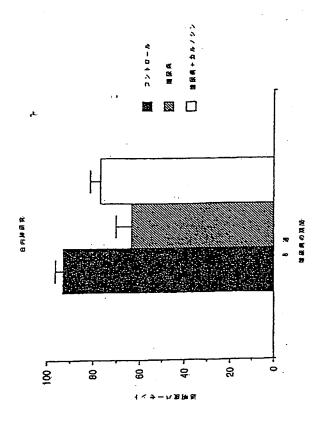
Hannes, 8 P., Martin, S., Federlin, C., Brownlee (1991) Proc. Satl. Acad. Sci.USA 88, 11555-11558

Lim, S.B., Elm, 1-S., Toum, D. H. & Park, Y. H. (1991) Not. Res. 254, 65-59
Maron, O.R. & Ares, B.S. (1983) Not. Rep. 113, 173-215

Babizhayev, N A. (1989) Biochimica et Biophysics Acta 1004, 363-371 [以下命日]







PCIALIZA

A. CLASSIFICATION OF SERVICE MATTER. L. C. ASIE STATE						
PC and the state of the state o						
R. FIGLDS STARCING						
Many demonstrates considered physiological systems believed by absorbiness symbols (PCC ANIX 2782)						
AU: DC = show						
DESIRED AND ADDRESS, ROMO ANEXONE, OPENING, CARCOTTE AND DEAETES						
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE	ELLEVANT	<u></u>				
Cotatory" "Durbon of Aprillation, 1723 birthousing						
X CHEMICALE, LTD.), J May 1989 X page 5 lines 11-16, page 7 lines 2-6 ET.A. XXXXXX (HAMARI YAKUHI)	(AHZIAN CHINZURAN OYDON MIHUNAY IRAMAH) OKCOKA, TO					
I February 1989 (15.02.89) I page 2 Since 43-49, and the claims	15 Pebruary 1929 (15.02.29) page 2 lines 43-49, and the claims					
√ (05.01.14n)	US.A.4717716 (ICINESPITIO NACIAL AND TALEO SUDA), 5 January 1988 (05.01,12) column 5 (com. 19-68, column 9-10 tiom 2-8, and the closes					
Y Post designed of the Control of th						
* Sported adequation of foreign determinants: **A decrement detailing the promoted season of the set which is not promoted and the promoted of the set which is not promoted or the promoted of the set which is not promoted or the promoted of the promoted of the promoted or the promoted of the promoted or the promoted or the promoted or the promoted of the promoted or the promoted of the promoted or the promoted of the promoted						
D= of the part of						
15 December 1992 (15.12/92) 24 DCC - F49-2 (24, 12, 92) Notes and milling address of the EU/AU Authorized after						
AUSTRALIAN PATENT OFFICE PO BOX 200						
ODEN ACT 2606 USTRALIA TAMARA NIZNIK						
Parison No. (04) 2253929	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·					

Carrie

	Frame Document Clini in Smarch Report	Parant Family Member						
wo.	9006 1072	ΑÙ	43320/89	EP	436611			
er	j13434	SP	63014728	นร	4727117	₩0	1900048	
US	4717728	CH	646123	DS	3540632 2170707	DK IP	5005/15 61194322	
	•	FR NL	2577138 8600112	GB SE	2170707 8505131	ır	B1100322	
EP	797799	IP	1912171	518	1731340			
US.	4308728							
		*						
							•	
								1
								O OF AIRTEX

PCT/AU72AI-44

CrC	POCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
· ,	Chains of decreased, with Indication, whose expressions of the retreast passages	Raterial to Challe No.
, J	US_A-450FZE (KINESHTRO NAGAL AND KINUKO NAGAD, 2 April 1985 (02.04.83) column 3 lines 20-64, column 7, columns 7-11	12-13, 19-21
x J	WO, A., 90/06102 (PEPTIDE TECHNOLOGY LIMITED). 14 June 1990 (14.00.99) page 3 lime 11-21	17-15, (1-2)
	•	
•		
		1
	·	J

フロントページの統き

(72)発明者 ヒプキッス、アラン ロジャー イギリス国 SE12 OUF ロンドン リー ゲイブルス クローズ 83 (72)発明者 パナジオトパウロス.シアンナ オーストラリア国 3108 ヴィクトリア ドンキャスター ライアル コート 2